

KARAKTERISASI SEDIAAN TOPIKAL ANTI AGING DARI KOMBINASI EKSTRAK PEGAGAN DAN KULIT BUAH MANGGIS

Yenny Meliana dan Melati Septiyanti

Pusat Penelitian Kimia - LIPI

Kawasan Puspiptek, Serpong 15314, Tangerang Selatan

E-mail: yenn001@lipi.go.id

Diterima: 12 Januari 2016

Diperbaiki: 21 Juni 2016

Disetujui: 1 Juli 2016

ABSTRAK

KARAKTERISASI SEDIAAN TOPIKAL ANTI AGING DARI KOMBINASI EKSTRAK PEGAGAN DAN KULIT BUAH MANGGIS. Pegagan mengandung bahan aktif triterpenoid yang mempunyai aktivitas penyembuh luka dan *asiaticoside* yang berfungsi meningkatkan perbaikan dan penguatan sel-sel jaringan kulit, mengurangi sklerosis, menstimulasi pertumbuhan kuku, rambut dan jaringan ikat. Kulit buah manggis yang mengandung senyawa aktif alfa-mangostina, gamma-mangostin dan garsinon-E memiliki aktifitas farmakologi sebagai anti inflamasi dan anti oksidan. Kombinasi kedua ekstrak diharapkan dapat mengurangi tanda-tanda penuaan. Kedua bahan aktif ini diracik dalam sediaan topikal dan diharapkan memiliki bentuk nano emulsi yang akan mengakibatkan cepat terserapnya kandungan bahan aktif ke jaringan kulit. Oleh karena itu perlu dilakukan karakterisasi untuk mengetahui dan memastikan ukuran partikel dari sistem emulsi serta kestabilan sediaan topikal berdasarkan parameter pH dan indeks bias. Hasil karakterisasi menunjukkan sistem emulsi produk yang dihasilkan dalam bentuk emulsi mikro dengan ukuran partikel antara 7-20 μm . Nilai indeks bias tidak menunjukkan perubahan yang signifikan untuk produk krim emulsi dengan variasi perlakuan homogenisasi. Berdasarkan parameter dari sistem pH yang diamati selama 20 hari terbukti krim emulsi *anti aging* yang dihasilkan stabil dengan nilai pH di antara 4,42 sampai dengan 4,85.

Kata kunci: Nano emulsi, Nano cream, Anti aging, Pegagan, Manggis

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF ANTI AGING TOPICAL PREPARATION FROM COMBINATION OF CENTELLA ASIATICA AND MANGOSTEENS PEEL EXTRACT. Gotu kola contain triterpenoid active agent that has activity as wound healing and asiaticoside which can repair and strengthen skin tissue cell, also reduce schlerosis, stimulating nail growth, hair and tissue. Mangosteens peel which rich with xanton group and the most active agent is alfa-mangostina, gamma-mangostin dan garsinon-E has farmacological activity as anti inflammation and anti oxidant. These two extract combination are expected to reduce the aging indications. These combination are made in a topical preparation which are expected to form a nano emulsion which cause a faster active agent penetration into skin tissue. Thus, it is necessary to do a characterization to know and make sure the nano particle size from the emulsion and the stability topical preparation based on pH and refractive index parameter. The results showed emulsion system resulting product is still in the form of micro- emulsion with particle size among 7-20 μm . The refractive index did not show significant changes to a wide variety of homogenization treatments. Based on the parameters of the system pH, anti aging cream emulsion is proved to be stable for 20 days with a pH value in the range of 4.42 - 4.85.

Keywords: Nano emulsion, Nano cream, Anti aging, Centella Asiatica, Mangosteen

PENDAHULUAN

Pegagan yang dikenal dengan nama latin *Centella Asiatica* mengandung kandungan vitamin B, C mineral dan bahan aktif utama berupa *triterpenoid glycoside* yang terdiri dari: *asiaticoside*, *asiatic acid*,

madecassoside, *madecassic acid*, *sitosterol*, senyawa-senyawa *polyacetylene* dan *kaempferol*. *Asiaticoside* berfungsi meningkatkan perbaikan dan penguatan sel-sel jaringan kulit, dan menstimulasi pertumbuhan kuku, rambut dan jaringan ikat [1]. Pegagan memiliki aktivitas anti oksidan yang ditunjukkan oleh parameter IC_{50} sebesar 31,25 $\mu\text{g/mL}$ [2]. Herbal ini banyak diaplikasikan ke dalam pengobatan, salah satunya adalah sediaan oral nano enkapsulasi yang dikombinasikan dengan jahe sebagai anti selulit [3].

Manggis dengan nama latin *Garcinia mangostana* L kaya senyawa golongan xanton, yang mana senyawa paling aktifnya adalah alfa-mangostin, gamma-mangostin dan garsinon-E [4]. Serta kulit buah manggis memiliki aktifitas farmakologi yaitu sebagai anti alergi, anti inflamasi, anti oksidan, anti kanker, anti mikroorganisme, anti aterosklerosis, bahkan anti HIV [5]. Aktivitas antioksidan kulit manggis ditunjukkan oleh parameter IC_{50} sebesar 44,49 $\mu\text{g/mL}$ [6]

Penuaan atau *aging* adalah peristiwa yang alami dan gejala paling umum adalah garis halus dan kerutan. Salah satu jenis penuaan adalah penuaan *stochastic* yang disebabkan oleh radikal bebas. Oleh karena itu, pengurangan pengaruh oksidatif menjadi fokus penelitian *anti aging* di dunia dan antioksidan sangat direkomendasikan untuk mencegah penuaan baik dalam sediaan oral maupun topikal [7]. *Crem anti aging* yang baik dapat mengurangi kerutan sebesar 10% dalam waktu 12 minggu [8].

Kombinasi ekstrak pegagan dan manggis dengan aktivitas bahan aktifnya diharapkan dapat mengurangi tanda-tanda penuaan. Kedua bahan aktif ini diracik dalam sediaan topikal yang diharapkan memiliki bentuk nano emulsi. Nano emulsi bersifat stabil secara kinetik sehingga tidak terjadi *creaming*, flokulasi, *coalescence* dan sedimentasi. Selain itu juga nano emulsi memiliki luas permukaan yang luas sehingga cocok untuk sistem transport yang efektif dan dapat diformulasikan ke dalam bentuk cairan, spray atau krim. Aplikasi nano emulsi juga aman untuk kesehatan manusia dan untuk tujuan pengobatan [9].

Studi mengenai sediaan topikal anti aging telah banyak dilakukan dengan berbagai zat aktif, diantaranya dengan minyak biji *Moringa Oleifera* [7], daun *Punica Granatum* [10], *Citrus* [11] dan ada pula yang sudah menggunakan ekstrak manggis [12]. Diantara produk *anti aging* yang telah dilakukan, kombinasi ekstrak pegagan dan manggis adalah formula baru dengan bahan asli Indonesia.

Stabilitas adalah salah satu faktor yang penting di dalam sistem emulsi karena emulsi merupakan sistem yang tidak stabil secara termodinamika dan mudah untuk terpisah seiring berjalannya waktu. Peristiwa yang dapat terjadi adalah *creaming*, flokulasi, *coalescence*, *phase inversion* dan *Ostwald ripening* [13]. Hal ini patut menjadi perhatian mengingat kosmetik membutuhkan umur jangka waktu yang cukup lama dalam hal distribusi

dan penjualan. Kehomogenan suatu emulsi dapat diukur dengan parameter ukuran partikel yang stabil dan juga penampilan fisik yang tidak berubah yang diukur dengan parameter indeks bias. Oleh karena itu perlu dilakukan karakterisasi untuk mengetahui dan memastikan ukuran nano partikel dari emulsi serta kestabilan sediaan topikal berdasarkan parameter pH dan indeks bias.

METODE PERCOBAAN

Material dan Prosedur

Proses pembuatan sediaan topikal *anti aging* terdiri dari dua tahapan. Tahapan pertama adalah pembuatan *base cream* dan yang kedua adalah pembuatan nano emulsi formulasi ekstrak pegagan dan manggis.

Base cream tersusun dari fasa minyak yaitu, 3,52% *Tween 20 for synthesis* Merck, 2,11% *avocado oil PT. Brataco*, 7,04% *cetyl alcohol PT. Brataco*, 3,52% *gliserin for analysis Merck*, 2,82% asam stearat for synthesis Merck serta fasa air yaitu, 10,56% *Propylen glycol PT. Brataco* dan 70,42% air demineralisasi. Fasa minyak diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada temperatur 60 °C dan fasa air diaduk pada temperatur ruang. Kemudian fasa minyak ditambahkan ke dalam fasa air sedikit demi sedikit sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*.

Nano emulsi tersusun dari fasa minyak yaitu, 0,5% *Cetyl alcohol PT. Brataco*, 1% PEG 100 PT. Brataco, 7 gr *avocado oil PT. Brataco*, 10% ekstrak pegagan PT. Java Plant, 6% ekstrak kulit manggis, 0,1% metil paraben, 0,1% *Ethanolamine extra pure* Merck serta fasa air yaitu, 2% *propylene glycol PT. Brataco* dan 73,3% air demineralisasi. Fasa minyak diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada temperatur 60 °C dan fasa air diaduk pada temperatur ruang. Kemudian fasa minyak ditambahkan ke dalam fasa air sedikit demi sedikit sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*.

Nano cream dibuat dengan mencampurkan nano emulsi ke dalam *base cream* dengan perbandingan berat 1:10. Keduanya diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* sampai homogen kemudian dilanjutkan dengan homogenisasi menggunakan homogenizer IKA T25 Digital Ultra Turrax dengan kecepatan 15000 rpm dengan variasi waktu homogenisasi 10, 30 dan 60 menit.

Karakterisasi dan Analisis

Pengamatan dilakukan selama dua puluh hari pada *base cream* dan *nano cream anti aging* kemudian dilakukan pengujian secara berkala. Karakterisasi yang dilakukan adalah pengujian pH menggunakan pH meter Eutech 700 series, pengujian indeks bias menggunakan Refraktormeter Atago RX-5000a dan pengujian partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* Beckman Coulter LS 100 Q.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ukuran Partikel *Nano Cream*

Nano emulsi ini diformulasi dalam bentuk sediaan topikal yang dapat memaksimalkan efikasi zat aktif dan merupakan alternatif sediaan yang terbaik. Sediaan topikal adalah bentuk yang sering digunakan dalam pengobatan dermatologi [14]

Stabilitas emulsi sangat bergantung pada sifat fisika, sifat kimia dan ukuran droplet yang terdistribusi pada sistem emulsi [15].

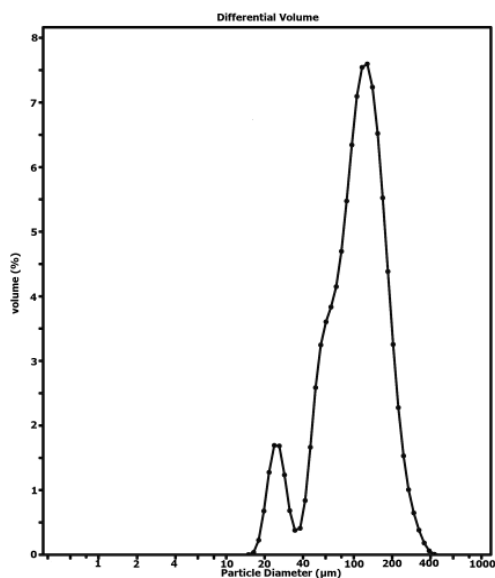
Nano emulsi adalah dispersi dari tetesan berskala nano yang terbentuk oleh pecahan yang diinduksi oleh gesekan. Material yang dikatakan material skala nano adalah material yang tersusun dari struktur yang memiliki skala panjang yang berkisar antara radius 1 sampai 100 nm, yang berukuran lebih kecil dari batas bawah termasuk ke dalam skala angstrom dan yang berukuran lebih besar dari batas atas termasuk ke dalam skala mikro [16].

Hasil pengukuran ukuran partikel dari produk *nano cream* adalah sebagai berikut :

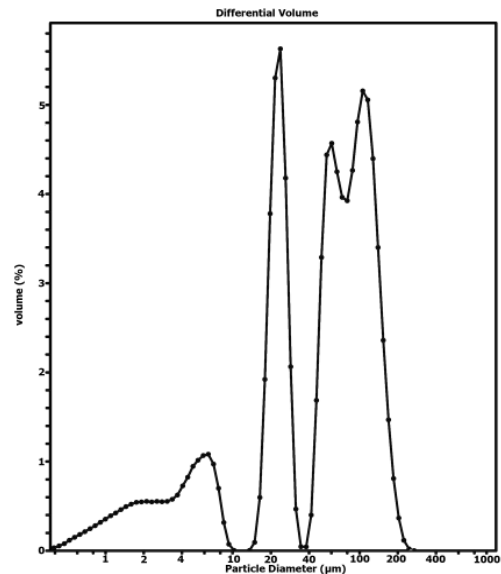
Tabel 1. Ukuran partikel *nano cream* terhadap waktu homogenisasi

Sampel	Ukuran Partikel (μm)
Base Cream sebelum homogenizer	114,7
Nano-cream Anti-aging sebelum homogenizer	61,65
Nano-cream Anti-aging 10 min homogenizer	19,56
Nano-cream Anti-aging 30 min homogenizer	16,87
Nano-cream Anti-aging 60 min homogenizer	7,425

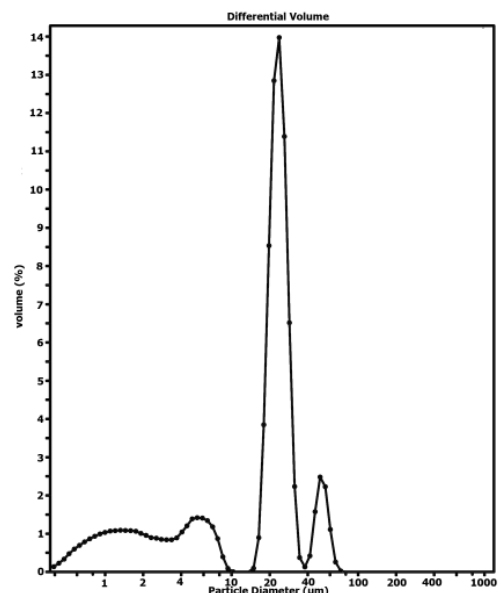
Tabel 1 menunjukkan perbandingan antara *base cream*, *cream anti aging* sebelum homogenisasi dan dengan homogenisasi dalam berbagai variasi waktu. Untuk membuat ukuran droplets yang kecil dibutuhkan alat mekanik dengan sejumlah energy, salah satunya



Gambar 1. Grafik distribusi ukuran partikel *base cream* sebelum homogenasi.

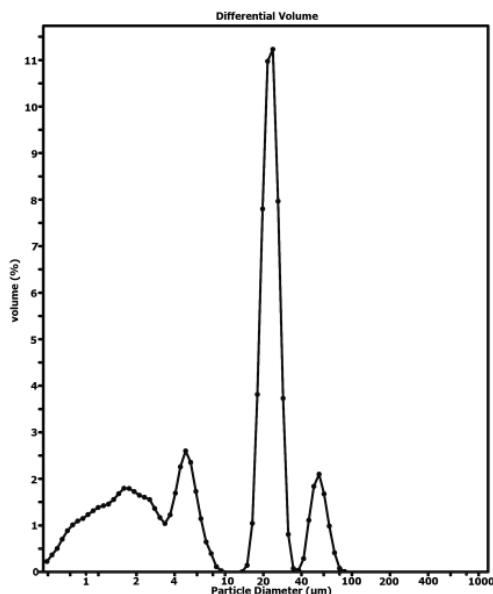


Gambar 2. Grafik distribusi ukuran partikel *anti aging* sebelum homogenasi.

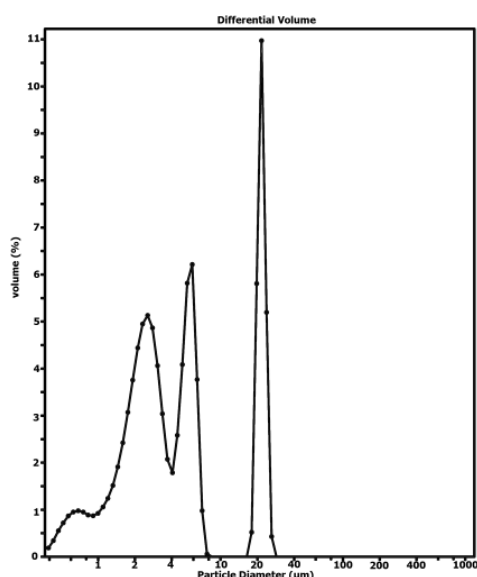


Gambar 3. Grafik distribusi ukuran partikel *anti aging* 10 menit homogenasi.

dengan homogenasi menggunakan *Ultra-Turax Homogenizer* dengan kecepatan 24000 rpm [17]. Dengan adanya perlakuan pengadukan dengan kecepatan 24000 rpm menyebabkan terjadi perubahan signifikan ukuran partikel dari semula *base cream* sebelum homogenasi adalah 114,7 μm menjadi berukuran antara 7,425-61,65 μm . Dapat dilihat bahwa ukuran partikel *cream* berbanding terbalik dengan waktu homogenisasi, dimana semakin lama waktu homogenisasi maka semakin kecil ukuran partikel yang dihasilkan. Hal ini diakibatkan oleh dengan lamanya waktu pengadukan, maka partikel-partikel *cream* mengalami kontak tumbukan lebih lama sehingga partikel terpecah menjadi ukuran yang lebih kecil. Semakin kecil ukuran partikel, sistem emulsi akan semakin stabil [13,18,19].



Gambar 4. Grafik distribusi ukuran partikel *anti aging* 30 menit homogenasi.



Gambar 5. Grafik distribusi ukuran partikel *anti aging* 60 menit homogenasi.

Namun dalam hal ini *cream* belum memiliki ukuran nano. Hal ini diduga terjadi karena ukuran bahan baku penyusun emulsi masih mikro pula dan distribusi ukuran tidak seragam. Ukuran partikel dan distribusi partikel droplet dan stabilitas dipengaruhi oleh mekanisme nukleasi dan pertumbuhannya. Bila bahan baku memiliki distribusi ukuran partikel droplet yang luas, cenderung akan terjadi *Ostwald ripening* dan atau *coalescence* [18]. Selain itu juga dapat diakibatkan oleh kecepatan aduk yang kurang tinggi.

pH Nano Crem

Hasil Pengukuran pH dari produk *nano crem* adalah sebagai berikut :

Tabel 2. pH *nano-cream* terhadap waktu.

pH Hari Ke- Kode Sampel	4	5	6	12	20
Base Cream sebelum homogenizer	4,66	4,82	4,87	4,57	4,74
Nano-cream sebelum homogenizer	4,72	4,61	4,65	4,69	4,42
Nano-cream 10 min homogenizer	4,71	4,57	4,62	4,56	4,61
Nano-cream 30 min homogenizer	4,85	4,61	4,68	4,69	4,68
Nano-cream 60 min homogenizer	4,76	4,71	4,68	4,55	4,54

Tabel 2 menunjukkan perbandingan tingkat keasaman *cream* terhadap waktu. Hal ini dilakukan untuk menguji kestabilan *cream* dalam jangka waktu tertentu. Dapat dilihat bahwa tingkat keasaman *cream* tidak berubah secara signifikan seiring bertambahnya waktu. Hal ini membuktikan bahwa sistem emulsi yang dihasilkan memiliki kestabilan yang baik. pH natural permukaan kulit rata-rata 4,7, dalam hal ini di bawah 5 [20]. Data ini mendukung bahwa sistem emulsi yang dihasilkan aman untuk diaplikasikan pada kulit manusia. pH sediaan *crem anti aging* ini cocok untuk perawatan penuaan kulit karena pH kulit yang sudah tua cenderung basa sehingga pH kulit dinormalkan kembali [21].

Pada penelitian yang dilakukan pada emulsi minyak mentah Algerian, emulsi pada pH lebih kecil dari pada 6 menunjukkan kestabilan yang tinggi [22]. Bila dibandingkan dengan hasil diatas, dapat dinyatakan emulsi yang dihasilkan stabil.

Indeks Bias Nano Crem

Salah satu indikator dalam uji kestabilan emulsi adalah warna dan kehomogenan yang dapat diamati secara visual [10,23]. Refraktometer optikal dapat digunakan untuk mengukur indeks bias nano emulsi yang homogen dengan presisi dan tingkat akurasi yang tinggi [24]. Hasil pengukuran indeks bias produk *nano cream* ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Indeks Bias Nano-cream.

Bahan	Index Bias
Base Cream sebelum homogenizer	1,34392
Pegagan-manggis sebelum homogenizer	1,35377
Pegagan-manggis 10 min homogenizer	1,35335
Pegagan-manggis 30 min homogenizer	1,35286
Pegagan-manggis 60 min homogenizer	1,35332

Tabel 3 menunjukkan perbandingan indeks bias terhadap variasi waktu homogenisasi. Dapat dilihat bahwa waktu homogenisasi tidak berpengaruh terhadap variabel indeks bias. Hal ini disebabkan oleh profil partikel semua sistem emulsi yang dihasilkan berukuran mikro. Emulsi skala mikro biasanya memiliki penyebaran cahaya yang kuat sehingga secara visual berwarna putih. Penyebaran ganda terjadi ketika cahaya dibiaskan berkali-

kali melalui droplet dan lapisan dan menghasilkan perbedaan indeks bias antara fasa disperse dan fasa kontinyu [16].

KESIMPULAN

Sistem emulsi yang dihasilkan masih berbentuk emulsi dengan rentang mikro yang mempunyai ukuran partikel antara 7-20 μm . Waktu pengadukan berbanding terbalik dengan ukuran partikel, semakin lama waktu pengadukan maka semakin kecil ukuran partikel. Semakin kecil ukuran partikel akan membuat sistem emulsi semakin stabil. Berdasarkan parameter dari sistem pH yang diamati selama 20 hari terbukti krim emulsi *anti aging* yang dihasilkan stabil dengan nilai pH di antara 4,42-4,85. Nilai indeks bias tidak menunjukkan perubahan yang signifikan untuk produk krim emulsi dengan variasi perlakuan homogenisasi. Berdasarkan parameter pH dan indeks bias, sistem emulsi *cream anti aging* terbukti stabil dan dapat direkomendasikan aman digunakan pada kulit manusia.

Tingkat keasaman emulsi mempengaruhi fenomena *coalescence* yang berkaitan dengan kestabilan emulsi. pH yang tidak berubah secara signifikan menunjukkan emulsi yang stabil. Penampakan fisik ditunjukkan oleh parameter indeks bias. Secara visual, krim yang terbentuk berwarna putih. Secara teori, mikroemulsi memiliki penyebaran cahaya yang tinggi sehingga tampak berwarna putih. Hal ini didukung oleh data pengamatan ukuran partikel yang berkisar antara 7-100 μm .

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Polimer Pusat Penelitian Kimia LIPI dan Program SINas Dikti.

DAFTAR ACUAN

- [1]. W. Bylka, P. Znajdek-Awizen, E. Studzinska-Sroka, and M. Brzezinska. "Centella Asiatica in Cosmetology". *Postep. Dermatologii Alergol Ogi.*, vol. 30, pp. 46-49, 2013.
- [2]. F. Pittella, R. C. Dutra, D. D. Junior, M. T. P. Lopes, and N.R. Barbarosa, "Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Centella Asiatica* (L) Urb". *Int. J. Mol. Sci.*, vol.10, no.9, pp. 3713-3721, 2009.
- [3]. Y. Meliana, D. Sondari, W. Kartika Restu, A. Haryono, M. Ghazali, E. Triwulandari, J. A. Laksmono, Y.A. Devy dan S. B. Harmami. "Produk Nanoenkapsulasi Sediaan Oral dari Kombinasi Ekstrak Pegagan dan Ekstrak Jahe". *HKI Pusat Inovasi LIPI*, 2015.
- [4]. K. Nakatani, T. Yamakuni, N. Kondo, T. Arakawa, K. Oosawa, S. Shimura, H. Inoue, and Y. Ohizumi. " γ -Mangostin Inhibits Inhibitor- B Kinase Activity and Decreases Lipopolysaccharide-Induced Cyclooxygenase-2 Gene Expression in C6 Rat Glioma Cells". *Mol. Pharmacol.*, vol. 66, no. 3, pp. 667-674, 2004.
- [5]. K. Nakatani, M. Atsumi, T. Arakawa, K. Oosawa, S. Shimura, N. Nakahata, and Y. Ohizumi. "Inhibitions of Histamine Release and Prostaglandin E2 Synthesis by Mangosteen, a Thai Medicinal Plant". *Biol. Pharm. Bull.*, vol. 25, pp. 1137-1141, Sept. 2002.
- [6]. S. G. Dungir, D. G. Katja, dan V. S. Kamu. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.)". *Jurnal MIPA Unsrat*, vol. 1, no. 1, hal. 11-15, 2012.
- [7]. S. Duraivel, A. Shaheda, R. Basha, E. Pasha, and Jilani. "Formulation and Evaluation of Antiwrinkle Activity of Cream and Nano Emulsion of Moringa Oleifera Seed Oil". *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, vol. 9, no. 4, pp. 58-73, 2014.
- [8]. S. Asma Shaheda, P. Anusha, and S. Meharaj Qudusiya. "a Review on Natural Bioactive Compounds As Potential Anti-Wrinkle Agents". *World J. Pharm. Sci.*, vol. 3, no. 3, pp. 528-544, 2014.
- [9]. R. Rajalakshmi, K. Mahesh, and C. K. A. Kumar. "A Critical Review on Nano Emulsions". *Int. J. Inov. Drug Discov.*, vol. 1, no. 1, pp. 1-8, 2011.
- [10]. S. P. Matangi, S. A. Mamidi, M. D. Gulshan, S. T. V Raghavamma, and R. R. Nadendla. "Formulation and Evaluation of Anti Aging Poly Herbal Cream". *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, vol. 24, no. 22, pp. 133-136, Jan. 2014.
- [11]. D. B. Kim, G. H. Shin, J. M. Kim, Y. H. Kim, J. H. Lee, J. S. Lee, H. J. Song, S. Y. Choe, I. J. Park, J. H. Cho, and O. H. Lee. "Antioxidant and Anti-ageing Activities of Citrus-based Juice Mixture". *Food Chem.*, vol. 194, pp. 920-927, 2016.
- [12]. E. Isabella and T. Pohan. "Formulation of Oil-in-Water Cream from Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Pericarp Extract Preserved by Gamma Irradiation". *Atom Indones.*, vol. 39, pp. 136-144, 2013.
- [13]. W. K. Restu, Y. Sampora, Y. Meliana, and A. Haryono. "Effect of Accelerated Stability Test on Characteristics of Emulsion Systems with Chitosan as a Stabilizer". *Procedia Chem.*, vol. 16, pp. 171-176, 2015.
- [14]. Yan Hendri dan S. W. Yenny, "Berbagai Bentuk Sediaan Topikal dalam Dermatologi". *Cermin Dunia Kedokteran*, vol. 39, no. 6, pp. 423-430, 2012.
- [15]. I. B. Adilina, E. Agustian, Y. Meliana, and A. Sulaswatty. "Ethoxylated Glycerol Monooleate : Palm oil Based Nonionic Surfactant for Oil in Water Emulsion Systems". *Proceeding Asean Conf. Sci. Technol.*, 2014.
- [16]. T. G. Mason, J. N. Wilking, K. Meleson, C. B. Chang, and S. M. Graves. "Nanoemulsions: Formation,

- Structure, and Physical Properties". *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 18, pp. R635-R666, 2006.
- [17]. A. Maali and M. T. H. Mosavian. "Preparation and Application of Nanoemulsions in the Last Decade (2000-2010)". *J. Dispers. Sci. Technol.*, vol. 34, no. 1, pp. 92-105, 2013.
- [18]. Y. Meliana and C. S. Chern. "Effect of the Molecular Weight of *n*-Alkane Costabilizers on the Ostwald Ripening of Styrene Miniemulsions". *J. Dispers. Sci. Technol.*, vol. 34, pp. 632-638, 2013.
- [19]. Y. Meliana, L. Suprianti, Y. C. Huang, C. T. Lin, and C.-S. Chern. "Effect of Mixed Costabilizer on Ostwald Ripening of Monomer Miniemulsions". *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 389, no. 1-3, pp. 76-81, 2011.
- [20]. H. Lambers, S. Piessens, a. Bloem, H. Pronk, and P. Finkel. "Natural Skin Surface pH is on Average Below 5, which is Beneficial for its Resident Flora". *Int. J. Cosmet. Sci.*, vol. 28, pp. 359-370, 2006.
- [21]. J. Blaak. "Treatment of Aged Skin with a pH 4 Skin Care Product Normalizes Increased Skin Surface pH and Improves Barrier Function: Results of a Pilot Study". *J. Cosmet. Dermatological Sci. Appl.*, vol. 01, no. 3, pp. 50-58, 2011.
- [22]. M. Daaou and D. Bendedouch, "Water pH and Surfactant Addition Effects on the Stability of an Algerian Crude Oil Emulsion". *J. Saudi Chem. Soc.*, vol. 16, no. 3, pp. 333-337, 2012.
- [23]. Particle Sciences: drug development services, "Emulsion Stability and Testing". *Tech. Br.*, vol. 2, 2011.
- [24]. M. M. Fryd and T. G. Mason, "Advanced Nanoemulsions". *Annu. Rev. Phys. Chem.*, vol. 63, pp. 493-518, 2012.